

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	JIN CHUJIA
論文題目	Studies on disease resistance mechanisms of cucurbitaceous plants against plant pathogenic microbes (ウリ科植物における植物病原微生物に対する病害抵抗性機構の研究)		
(論文内容の要旨)			
植物細胞表面のパターン認識受容体 (Pattern Recognition Receptor, 略称PRR) と細胞内のヌクレオチド結合ロイシンリッチリピート受容体 (Nucleotide-binding Leucine-rich repeat Receptor, 略称NLR) は、植物免疫において不可欠な要素である。PRRは植物病原微生物関連分子パターン (Pathogen-Associated Molecular Patterns, 略称PAMPs)を認識し、PAMP誘導免疫反応を発動する。一方、植物病原微生物はエフェクターと総称される分泌タンパク質を宿主植物に注入し、PAMP誘導免疫を抑制する。これに対する対抗戦略として、植物は特定のエフェクターをNLRによって認識することで、エフェクター誘導免疫と呼ばれる強力な免疫反応を発動し、当該植物病原微生物を撃退する。ウリ科植物は、キュウリ、メロン、スイカなどの重要作物を多数含んでおり、農業上、重要であるにも関わらず、その免疫機構の理解は不明な点が多く、PRR や NLR の知見も非常に限られているのが現状である。 本研究では、この現状を改善するために、ウリ科植物の免疫機構に焦点を当てている。具体的には、ウリ科植物の植物病原微生物への免疫反応に関わるPRRおよび NLR の単離とその機能解析を実施した。 第1章では、ウリ科植物の PRR に焦点を当てた。<i>FLAGELLIN SENSING 2 (FLS2)</i> 遺伝子は、植物病原細菌の鞭毛を構成するフラジェリンタンパク質の部分配列flg22を感知する PRR をコードしている。キュウリ (<i>Cucumis sativus</i>) とメロン (<i>C. melo</i>) の <i>FLS2</i> 相同遺伝子を同定し、それぞれ <i>CsFLS2</i> と <i>CmFLS2</i> と名付けた。ウイルス誘導性遺伝子サイレンシング (Virus-Induced Gene Silencing, 略称VIGS) により、<i>CsFLS2</i>遺伝子をノックダウンしたキュウリ植物を作出し、続いて、flg22処理時の活性酸素生成を測定した結果、<i>CsFLS2</i>遺伝子をノックダウンしていない対照植物ではflg22に応答して活性酸素が生成されたのに対して、ノックダウン植物では活性酸素の生成が顕著に低下していた。この結果より、<i>CsFLS2</i> はキュウリにおける flg22 誘導性活性酸素生成に必要であることが明らかとなった。一方、メロン (品種レノン) に対するゲノムシーケンス解析および続くゲノムPCR解析により、レノンには2つの<i>CmFLS2</i> ハプロタイプ、すなわち全長<i>CmFLS2</i>をコードする<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIと部分欠失型<i>CmFLS2</i>をコードする<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIIがあることが判明した。<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIのVIGSにより、<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIがメロン品種レノンにおけるflg22誘導性活性酸素生成に必要であることが明らかとなった。さらに、植物病原細菌の接種試験により、<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIがレノンにおける細菌抵抗性において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。続いて、販売されているメロン栽培品種において、<i>CmFLS2</i>のジェノタイピングを実施した結果、驚くべきことに、<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIIのみを有する、つまり、機能的な<i>FLS2</i>遺伝子を保持していないメロン栽培品種が多数存在していることが判明した。さらに、より多くのメロン系統における<i>CmFLS2</i>のジェノタイピングを実施した結果、<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIIが、<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>由来であることが強く示唆された。また、野生型メロン系統と比較して、改良型メロン系統では<i>CmFLS2</i>ハプロタイプIIの割合が増加していることが見出された。これらの結果は、<i>C. melo</i> subsp. <i>melo</i>内の野生型メロン系統で生じた欠失<i>FLS2</i>遺伝子の頻度が栽培化後に増加し、細菌免疫において重要な役割を果たすフラジェリン認識能に欠陥のある商業用メロン栽培品種の普及をもたらしたことを示唆する。 第2章では、ウリ科植物のNLRに焦点を当てた。具体的には、ウリ類炭疽病菌 (<i>Colletotrichum orbiculare</i>) への抵抗性に関与するスイカのNLRの同定に取り組んだ。ま			

ず、日本と米国の複数のウリ類炭疽病菌の菌株の異なるスイカ栽培品種への感染性を調査した。その結果、スイカ品種クリムゾンスイートは、米国産レース2株以外の調査したウリ類炭疽病菌のすべての菌株に対して、抵抗性を示すことが見出された。また、ウリ類炭疽病菌3-2株はシュガーベイビーなどのスイカ品種には非常に強い病原性を示す一方、クリムゾンスイートには全く感染できなかった。トリパンプルー染色解析の結果、3-2株を接種したクリムゾンスイートで過敏感反応が起きており、本抵抗性にNLR遺伝子が関与することが示唆された。3-2株に対するスイカ抵抗性系統と罹病性系統のF₂集団を作成し、罹病性F₂植物のbulk segregant解析を実施した結果、典型的なNLRタンパク質をコードする候補遺伝子が同定された。次に、3-2株とレース2株の両方に感受性のあるキュウリ品種に本候補遺伝子を導入した。その結果、作出した形質転換キュウリは、3-2株を含む複数のウリ類炭疽病菌の菌株に対して抵抗性を示した一方、レース2株には抵抗性を示さなかった。本結果より、同定されたNLRがウリ類炭疽病菌に対するスイカの抵抗性に関与していることが明らかとなった。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

ウリ科には、キュウリ、メロン、スイカなどの重要作物が多数含まれており、その農業上の重要性は明らかであるが、植物病原微生物に対する免疫機構の理解は、十分に進んでいるとは言えない。本研究においては、この問題を改善するために、ウリ科植物の免疫機構の研究をおこなっている。具体的には、ウリ科植物のPRRおよびNLRの単離とその機能解析を目指した。その結果、メロン、キュウリにおいて、植物病原細菌への抵抗性において重要な役割を果たすPRR遺伝子の同定に成功し、さらに本遺伝子が多くメロン栽培品種で喪失していることを明らかにしている。また、炭疽病に対するスイカの強度抵抗性に関わるNLR遺伝子の同定にも成功している。本研究の評価できる点は以下の通りである。

1. 植物病原細菌の鞭毛を構成するフラジェリンの部分配列flg22を認識するPRRであるFLS2をコードする遺伝子 (*CsFLS2*と命名) をキュウリにおいて同定し、*CsFLS2*がflg22誘導性活性酸素生成において必要であることを明らかにした。
2. 一方、メロンにおいてはFLS2をコードする遺伝子 (*CmFLS2*と命名) には機能型と部分欠失型の二つのハプロタイプが存在し、機能型ハプロタイプがflg22誘導性活性酸素生成および細菌抵抗性に必要であることを明らかにした。
3. メロンの多くの栽培品種において、部分欠失型ハプロタイプのみを有する、つまり、機能的なFLS2遺伝子を有していないことを明らかにし、さらに、部分欠失型ハプロタイプがメロン栽培化過程で増大したことを示唆した。
4. ウリ類炭疽病菌の抵抗性に関与するスイカのNLR 遺伝子を同定し、さらに本遺伝子をキュウリに導入することで、ウリ類炭疽病菌への抵抗性を付与することに成功した。

以上のように、本論文は細菌抵抗性において重要なPRR遺伝子であるFLS2遺伝子をウリ科作物において同定し、さらに多くのメロン栽培品種において本遺伝子が失われていることを明らかにしている。加えて、スイカにおいて、炭疽病抵抗性に関与するNLR遺伝子の同定に成功しており、ウリ科作物の免疫機構の研究を大きく推進した。これらの成果は、植物病理学、植物免疫学、育種学の発展に寄与するところ大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和7年1月28日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）